

Génétique humaine

M. Jean-Louis MANDEL, membre de l'Institut
(Académie des Sciences), professeur

COURS : DE LA PHYSIOPATHOLOGIE AU TRAITEMENT DE MALADIES MONOGÉNIQUES

Une série de 6 cours a été consacrée au thème « De la physiopathologie au traitement des maladies monogéniques », les 16, 23 et 30 mars 2011. En introduction, j'ai rappelé les premiers succès thérapeutiques obtenus pour des maladies génétiques (phénylcétonurie, hémophilies, maladie de Gaucher), en retraçant l'historique mais aussi les problèmes imprévus qui ont fait suite à la mise en place de ces traitements, et les perspectives thérapeutiques actuelles pour les maladies concernées. Pour la phénylcétonurie, malgré les connaissances rudimentaires de l'époque, le passage de l'identification du défaut biochimique (Jervis 1953) à la mise en place par Robert Guthrie du dépistage néonatal lié au traitement diététique (1961-63) fut remarquablement rapide. Mais ce succès fut suivi vers la fin des années 1970 par l'émergence du problème majeur de toxicité fœtale chez les mères phénylcétonuriques, véritable bombe à retardement qui nécessita la mise en place difficile d'un suivi à long terme des femmes traitées. La lourdeur du traitement diététique justifie la recherche d'alternatives thérapeutiques pharmacologiques (sapropterin, Hegge *et al.* 2009) ou à beaucoup plus long terme, la thérapie génique. Pour l'hémophilie A, il se passa 16 ans entre l'identification, en 1939, d'un facteur plasmatique antihémophilique (plus tard caractérisé sous le nom de Facteur VIII de coagulation) et la mise au point d'un traitement substitutif préparé à partir de sang de donneurs (1955-65). Les problèmes imprévus et dramatiques furent ceux de la contamination par le virus HIV (reconnu en 1983) et par le virus de l'hépatite C (reconnu en 1989) conduisant à la mise en place du traitement à partir du facteur VIII produit par génie génétique (1993). Ce traitement reste très couteux ce qui pose des problèmes d'application, notamment dans les pays à faible niveau économique. Des essais de thérapie génique pour l'hémophilie B n'ont pas fait preuve d'efficacité et cette approche paraît encore plus difficile pour l'hémophilie A, la plus fréquente.

La maladie de Gaucher est due au déficit d'une enzyme lysosomale, pour laquelle une thérapie enzymatique substitutive fut proposée dès 1974, aboutissant à la création de la société Genzyme, qui mit au point et commercialisa en 1990 une préparation purifiée et modifiée d'origine placentaire, puis en 1994 la production

par génie génétique dans des cellules en culture. Ce traitement, efficace pour les formes non neurologiques, reste très couteux (200 000 \$ par an et par patient, à vie). D'autres traitements par enzymothérapie substitutive pour des maladies lysosomales ont depuis été mis au point (pour les maladies de Fabry, de Pompe, de Hunter, etc.), liés aux propriétés particulières des enzymes lysosomales. Là aussi le coût et les limitations de ces traitements (pas de passage de la barrière hémato-encéphalique) conduisent à rechercher des stratégies alternatives pharmacologiques (molécules chaperones) ou thérapie génique.

Deux cours furent consacrés à des exemples plus récents illustrant le passage de l'identification du gène muté dans une pathologie à la création de modèles de souris ou même dans la mouche drosophile, permettant d'éclairer la physiopathologie, de réaliser des essais cliniques thérapeutiques, et enfin de passer aux essais cliniques chez les patients. Pour le syndrome de retard mental avec X fragile, lié au déficit de la protéine FMRP impliquée dans le transport et contrôle traductionnel d'ARNs messagers, c'est le modèle de souris « knock-out » pour le gène *FMR1* qui permet de mettre en évidence une conséquence sur la signalisation postsynaptique glutamatergique (impliquant le récepteur mGluR5) et de proposer une approche par inhibiteur mGluR5, validée également dans le modèle drosophile, aboutissant à un premier essai clinique dont les résultats paraissent encourageants (Jacquemont *et al.* 2011). Les travaux du groupe de Steve Warren illustrent également la possibilité de réaliser le criblage à moyen débit de 2000 molécules à effet pharmacologique sur le modèle de drosophile invalidée pour l'homologue du gène *FMR1* (Chang *et al.* 2008). En ce qui concerne le syndrome de Marfan (maladie autosomique dominante liée à des mutations du gène codant pour la fibrilline), caractérisé par des anomalies aortiques (anévrismes) conditionnant le pronostic vital, les travaux de Hal Dietz et Bart Loeys, combinant la caractérisation d'un modèle souris déficient pour le gène *FBNI* et des approches de génétique humaine sur des maladies présentant des pathologies similaires, ont montré l'implication tout à fait inattendue d'une hypersignalisation par la cytokine TGF β (Neptune *et al.* 2003). Ceci les a conduits à des essais précliniques sur la souris, puis à un premier essai clinique chez des jeunes patients d'une molécule déjà approuvée pour une utilisation chez l'homme, le losartan (Habashi *et al.* 2006, Brooke *et al.* 2008). Les résultats très positifs ont justifié la mise en place d'essais cliniques de plus grande ampleur.

Les 3 derniers cours ont été consacrés aux approches de thérapie génique. Ce domaine a été initié au début des années 1990, et a connu une grande expansion, mais les espoirs générés ont été longtemps battus en brèche. Il a fallu attendre les travaux de l'équipe de Marina Cavazzana-Calvo et Alain Fischer décrivant une thérapie par correction de cellules précurseurs hématopoïétiques autologues utilisant un vecteur rétroviral, sur des patients avec un déficit immunitaire sévère, pour avoir en 2000 des premiers résultats montrant une correction du phénotype clinique avec un réel bénéfice thérapeutique. Toutefois, la survenue après 3 ans d'une leucémie aigüe chez 4 des 8 patients traités avec succès par ce protocole, a montré le risque important de génotoxicité insertionnelle liée au vecteur viral utilisé (Hacein-Bey-Abina *et al.* 2003, 2010), et la nécessité de développer des vecteurs plus sûrs (vecteurs auto-inactivants, utilisation d'éléments insulateurs). Même dans ces conditions, le bénéfice thérapeutique apparaissait réel. Les vecteurs rétroviraux ont toutefois une efficacité très faible sur des cellules souches se divisant rarement. Pour surmonter ce problème, des systèmes de vecteurs basés sur des lentivirus (dont le HIV) ont été développés. Ceci a permis un premier essai efficace sur une très

sévère maladie neurologique, l'adréneleucodystrophie, avec une stratégie développée par l'équipe de Nathalie Cartier et Patrick Aubourg, avec 3 patients traités montrant la présence de cellules corrigées plus de 2 ans après la greffe autologue de telles cellules, et surtout un arrêt du processus de démyélinisation (Cartier *et al.* 2009, 2010). Une approche similaire avec vecteur lentiviral a été utilisée chez un patient avec β thalassémie, aboutissant à un effet thérapeutique permettant l'arrêt du traitement transfusionnel, mais avec l'apparition progressive d'un clone cellulaire dominant surexprimant le facteur de transcription HMGA2 dans les cellules érythroïdes. Même si cette expansion clonale paraît bénigne, et pourrait avoir joué un rôle dans l'efficacité thérapeutique, elle illustre le fait que la génotoxicité insertionnelle est difficile à contrôler (Cavazzana-Calvo *et al.* 2010). Toutefois, un essai d'utilisation de vecteurs lentiviraux a été approuvé par la FDA pour le traitement d'une affection rétinienne, la dégénérescence maculaire liée à l'âge.

Un autre type de vecteur viral, avec des propriétés complètement différentes, basé sur des virus AAV (adéno-associated virus) a été développé à partir de 1991 (Samulski) et a connu un grand essor dans les dix dernières années, en raison de l'existence de sérotypes pouvant cibler différents tissus. Il s'agit, contrairement aux vecteurs rétroviraux ou lentiviraux, de vecteurs ne s'intégrant pas dans le génome de la cellule hôte, diminuant donc le risque de génotoxicité. Des premiers résultats ont montré une efficacité préclinique sur un modèle canin d'affection rétinienne sévère (Acland *et al.* 2001, Le Meur *et al.* 2007), conduisant à des premiers essais cliniques très encourageants (Maguire *et al.* 2008, Bainbridge *et al.* 2008).

La leucodystrophie métachromatique est une maladie lysosomale avec un phénotype neurologique très sévère, pour laquelle il n'existe actuellement aucun traitement. Des essais précliniques prometteurs d'un vecteur AAV sur un modèle souris de la maladie, et montrant l'efficacité de l'expression génique dans le cerveau de primates (Sevin *et al.* 2006, Colle *et al.* 2010) ont permis l'approbation d'un essai clinique qui doit débiter prochainement. À un degré d'avancement moindre, des résultats encourageants ont été obtenus par thérapie génique utilisant des AAV exprimant le gène SMN dans des modèles souris d'amyotrophie spinale (Passini *et al.* 2010, Valori *et al.* 2010).

Les approches citées de thérapie génique visent toutes à permettre l'expression de la protéine absente ou déficiente chez les patients. D'autres stratégies sont en cours de développement pour moduler l'expression des gènes responsables de certaines pathologies, pour corriger l'effet de mutations spécifiques. La myopathie de Duchenne est due à des mutations affectant le gène DMD codant pour un ARN messager et une protéine de très grande taille, dépassant largement les capacités des vecteurs actuels envisagés pour la thérapie génique. L'équipe de Van Ommen (Leiden) a proposé, il y a plusieurs années, une stratégie ciblant l'épissage du pré-messager muté, permettant par saut d'exon de rétablir la phase de lecture pour des mutations spécifiques, conduisant ainsi à la synthèse d'une protéine comportant une délétion interne, mais partiellement active. L'injection intramusculaire d'oligonucléotides antisens a montré une absence de toxicité et une réexpression de la dystrophine dans le muscle injecté (van Deutekom 2007). Des technologies alternatives pour le saut d'exon ont été testées dans des modèles animaux de myopathie de Duchenne (souris ou chien) (Goyenvalle *et al.* 2004, Yokota *et al.* 2009). Un article a été publié peu après ce cours décrivant des résultats d'injection systémique d'oligonucléotides antisens pour le saut de l'exon 51 chez douze patients, montrant une efficacité moléculaire (réexpression de dystrophine

musculaire) et un effet clinique modeste dans un test de marche, après douze semaines de traitement (Goemans *et al.* 2011). Enfin, dans des pathologies liées à des expansions de répétitions nucléotidiques entraînant la production d'un ARN messager toxique (myotonie dystrophique) ou d'une protéine toxique (maladie de Huntington), des stratégies utilisant des oligonucléotides modifiés complémentaires de la répétition ont été testées sur des modèles cellulaires ou de souris, avec des résultats encourageants pour ces deux maladies (Mulders *et al.* 2009, François *et al.* 2011, Sah et Aronin 2011). Mais vu les tissus cibles affectés dans ces pathologies, le passage à l'homme posera certainement des problèmes difficiles.

Des cours ont été donnés sur « Génétique multifactorielle des maladies communes » (4h, le 22 octobre 2010, au Master Physiopathologie cellulaire et moléculaire, Module Génétique Humaine à l'Université de Strasbourg), sur « Génétique et autisme » (1h30, 9 décembre 2010, Université Claude Bernard, Lyon 1 et « Fragile X syndrome » au 2nd advanced course « Mental Retardation: from clinic to gene and back », en juillet 2011 à l'Université du Minho à Braga (Portugal).

RECHERCHE

Le groupe de recherche en génétique humaine fait partie du département de Médecine translationnelle et Neurogénétique de l'IGBMC (Institut de Génétique et Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104 du CNRS, Inserm U964 et Université de Strasbourg). Il se consacre à l'étude des mécanismes génétiques et physiopathologiques de maladies monogéniques neurologiques ou musculaires. Des aspects de recherche clinique sont développés avec le laboratoire de diagnostic génétique du CHU de Strasbourg, dirigé par J.L. Mandel.

Liste des équipes et thématiques :

- 1a) Fonction de la protéine FMRP, déficiente dans le syndrome de retard mental avec X fragile (avec Hervé Moine, DR2 CNRS). Nouvelles approches visant à expliquer le biais de sexe dans le retard mental avec ou sans autisme (nouveaux projets initiés par J.L. Mandel).
- 1b) Analyse génétique du syndrome de Bardet-Biedl (avec Jean Muller, MCU-PH et en collaboration avec le Prof. H. Dollfus) et autres applications du diagnostic génétique.
- 2) Mécanismes du syndrome de Coffin-Lowry (retard mental syndromique lié au chromosome X) impliquant la protéine kinase Rsk2 (André Hanauer, MCU).
- 3) Mécanismes des maladies neuromusculaires : Myopathies myotubulaire et centronucléaires et analyse fonctionnelle de la voie des myotubularines (Jocelyn Laporte, DR2 Inserm).
- 4) L'équipe AVENIR-INSERM de Nicolas Charlet-Berguerand (CR1 Inserm) étudie les mécanismes moléculaires de toxicité d'ARNs avec expansions de répétitions tri- ou tétranucléotidiques à l'origine des myotonies dystrophiques et du syndrome FXTAS.
- 5) Hélène Puccio (DR2 Inserm, lauréate d'un « ERC starting grant » du Conseil Européen de la Recherche) et son équipe s'intéressent aux mécanismes physiopathologiques de l'ataxie de Friedreich et d'autres ataxies récessives liées à des déficits mitochondriaux.

- 6) Identification de nouveaux gènes impliqués dans des formes d'ataxies récessives, épidémiologie moléculaire et études de corrélation génotype/phénotype dans cette pathologie (Michel Koenig, PU-PH).

- 7) Mécanismes pathogéniques des maladies neurodégénératives causées par des expansions de polyglutamine, dont la maladie de Huntington et l'ataxie spinocérébelleuse de type 7 (Yvon Trotter, DR2 INSERM).

1a) Syndrome de retard mental avec chromosome X fragile et fonction de la protéine FMRP

(avec Hervé Moine, DR2 CNRS)

Le syndrome X-fragile représente la forme la plus fréquente de retard mental monogénique. Ce syndrome résulte d'une expansion instable de répétitions CGG dans le gène *FMRI*, entraînant sa répression transcriptionnelle (*FMRI* : code pour la protéine FMRP : Fragile X Mental Retardation Protein, qui lie des ARN messagers cibles au sein de complexes ribonucléoprotéiques associés aux polysomes). De nombreux travaux suggèrent un rôle de FMRP dans le métabolisme des ARNm neuronaux, notamment dans le transport dendritique et la traduction localisée d'ARNm importants pour la plasticité synaptique. Cependant le rôle précis de FMRP n'est toujours pas clairement identifié. Afin de caractériser la fonction et les mécanismes d'action de FMRP, nous avons entrepris 1) d'identifier des cibles ARNm de FMRP pouvant expliquer les phénotypes de la maladie et 2) de caractériser l'action exacte de FMRP sur ces cibles en utilisant le modèle murin du syndrome de l'X fragile.

Nous avons montré antérieurement que FMRP se lie de manière spécifique et avec une forte affinité aux ARNm contenant un motif structural de type « G(uanine)-quadruplexe » (Schaeffer *et al.*, 2001 ; Castet *et al.*, 2005) et contribue à la formation de granules d'ARN en conditions de stress cellulaire (Didiot *et al.*, 2009). Nous avons montré que FMRP peut également interagir avec un autre type de motif d'ARN en tige-boucle (SoSlip) (Bechara *et al.*, 2009). Le motif G-quadruplexe est toutefois le plus fréquemment retrouvé parmi les cibles potentielles de FMRP. Nous avons ainsi récemment identifié la présence d'un consensus G-quadruplexe dans la région 3' non traduite d'une proportion importante des ARNm neuronaux localisés dans les dendrites (cette proportion est de 30 %, alors qu'elle est inférieure à 5 % dans une population aléatoire d'ARNm) suggérant un rôle de FMRP dans la localisation de ces ARNm (Subramanian *et al.*, 2011). Nous avons montré qu'une structure G-quadruplexe est effectivement formée dans les ARNm de deux protéines essentielles pour l'activité synaptique, CaMKIIa et PSD95, et cette structure est nécessaire à leur interaction avec FMRP. De plus, le motif G-quadruplexe est nécessaire et suffisant pour l'adressage au niveau des dendrites des ARNm CaMKIIa et PSD95 et cette activité est modulée par l'activation des récepteurs au glutamate mGluR5. Le motif G-quadruplexe représente donc un nouveau type de signal d'adressage des ARNm vers les dendrites et FMRP est une protéine agissant en *trans* sur cet adressage. En effet, l'absence de FMRP induit un défaut de localisation de l'ARNm CaMKIIa (environ 20 %) suivant la stimulation des récepteurs métabotropiques au glutamate (mGluR5). FMRP ne semble donc pas être essentielle au transport mais contribue à la régulation de ce transport d'une manière mGluR-dépendante.

En collaboration avec l'équipe de Barbara Bardoni (CNRS, Sophia-Antipolis) nous poursuivons d'une part la caractérisation de nouvelles cibles ARNm de FMRP pour expliquer des traits encore non élucidés du phénotype de l'X-fragile et d'autre part nous cherchons à récapituler le rôle de FMRP sur un système de gène rapporteur en culture de neurones pour expliquer sa fonction dans les granules de transport des ARNm et le contrôle de l'expression de gènes neuronaux.

Deux nouvelles approches visant à tester des hypothèses pouvant expliquer le biais de sexe observé dans le retard mental et dans l'autisme (plus fréquents chez les garçons) ont été initiées en 2011 (avec Amélie Piton, boursière postdoctorale FRM). Nous explorerons les gènes cibles, dans des neurones humains, de régulation transcriptionnelle par les androgènes et le récepteur aux androgènes (projet financé par l'ANR), et le rôle potentiel dans le biais de sexe de variants rares (faux-sens) présents dans les 90 à 100 gènes du chromosome X impliqués dans des formes monogéniques de retard mental (financement de la Fondation Jérôme Lejeune).

*1b) Analyse génétique du syndrome de Bardet-Biedl
et autres applications du diagnostic génétique*

(avec J. Muller, en collaboration avec le Prof. H. Dollfus)

Le syndrome de Bardet-Biedl (BBS), de transmission autosomique récessive, associe rétinite pigmentaire, obésité, polydactylie, anomalies rénales et atteinte cognitive. Il est caractérisé par une étonnante hétérogénéité génétique, contrastant avec la spécificité de la présentation clinique. De 2000 à 2011, 16 gènes (BBS 1 à 16) ont été identifiés, dont les mutations rendent compte d'environ 70 % des patients. L'identification de ces gènes a permis de relier le syndrome BBS à des défauts dans la fonction de structures ciliées (cil primaire). Nous participons à une étude initiée par le Prof. Hélène Dollfus (INSERM/AVENIR, Faculté de Médecine de Strasbourg), visant notamment à identifier de nouveaux gènes BBS, à rechercher des corrélations génotype/phénotype éventuelles, étudier l'épidémiologie moléculaire du syndrome et développer des applications au diagnostic et au conseil génétique. Cette étude a permis d'identifier deux gènes (BBS10 et BBS12) particulièrement importants car mutés chez plus de 25 % des patients (Stoetzel *et al.* 2006, 2007, Muller *et al.* 2010). Contrairement à la plupart des autres gènes BBS, bien conservés chez les invertébrés, les gènes BBS10 et BBS12 codent pour des protéines spécifiques des vertébrés, dont la séquence protéique évolue rapidement, et qui appartiennent, comme BBS6, à la superfamille des chaperonines de type II (Stoetzel *et al.* 2007). Ces 3 gènes définissent une branche spécifique des vertébrés au sein de cette superfamille dont les autres membres ont une origine beaucoup plus ancienne (Stoetzel *et al.* 2007). Un complexe contenant les protéines BBS 6, 10 et 12 a été récemment identifié, qui joue un rôle dans l'assemblage du BBSome, un complexe contenant sept autres protéines BBS (Seo *et al.* 2010).

Nous avons mis au point des approches de diagnostic moléculaire s'appuyant notamment dans les familles consanguines, sur la cartographie d'homozygotie (Muller *et al.* 2010). Les études de corrélation génotype-phénotype ont montré qu'une forme variante de syndrome de Bardet-Biedl (syndrome McKusick/Kaufmann ou MKKS, caractérisé par la présence d'une malformation anténatale, l'hydrometrocolpos) précédemment associée à des mutations du gène BBS6, peut se retrouver chez des patients avec des mutations dans d'autres gènes BBS (Schaefer *et al.* 2011).

La recherche de mutations dans les 16 gènes BBS pour le diagnostic ou l'épidémiologie moléculaire étant très lourde par les techniques de séquençage classique, nous avons mis au point en 2011 une approche très puissante basée sur la capture ciblée d'exons de 30 gènes (gènes BBS et de ciliopathies cliniquement ressemblantes, telles que le syndrome d'Alström ou la néphronoptose) couplée au séquençage à très haut débit. Nous avons validé cette approche sur 16 patients avec mutations connues, et l'avons appliquée à 36 patients dont la nature des mutations n'avait pas été déterminée. Cette méthodologie permet également de détecter des délétions hétérozygotes d'exons, ce que ne permet pas le séquençage classique. Nos résultats montrent que la probabilité de détecter les mutations est corrélée avec le nombre de signes cliniques du syndrome BBS présentés par les patients, et suggèrent que très peu de gènes de syndrome BBS « classique » restent à identifier (Redin *et al.* en préparation).

Nous avons contribué à des études ayant permis d'identifier des mutations à type gain de fonction du gène NOTCH2 dans une maladie squelettique avec ostéoporose (syndrome d'Hajdu-Cheney, collaboration avec C. Le Caignec et R. Redon, Nantes) (Isidor *et al.* 2011), et d'identifier un nouveau gène majeur d'une anomalie de la spermatogenèse, la globozoospermie, gène affecté principalement par des délétions de 200 kilobases entre deux séquences répétées (collaboration de J. Muller avec S. Viville, Strasbourg) (Koscinski *et al.* 2011). J. Muller a participé à une étude montrant un nouveau phénotype postnatal atténué dans une ostéodysplasie osseuse connue jusqu'ici comme syndrome à létalité néonatale, lié à des mutations du gène Fam20C (collaboration avec B. Doray, Strasbourg) (Fradin *et al.* 2011). Nous avons confirmé la fréquence relativement importante d'expansions polyalanine dans le gène ARX dans des cas de retard mental familial avec épilepsie infantile ou avec dystonie des mains (Cossée *et al.* 2011).

2) Syndrome de Coffin-Lowry et kinase RSK2

(André Hanauer)

L'équipe étudie les mécanismes physiopathologiques pouvant être responsables des déficits cognitifs dans le syndrome de Coffin-Lowry. Les mutations perte de fonction dans le gène RPS6KA3 lié au chromosome X, codant pour la protéine kinase *Rsk2*, sont responsables de ce syndrome. Des souris invalidées pour le gène RSK2 ont été créées précédemment par l'équipe. Nous avons récemment mis en évidence des anomalies de la voie dopaminergique au niveau du cortex de ces souris (Marques Pereira *et al.* 2008).

Une étude transcriptomique d'hippocampe de souris invalidées pour *Rsk2* a révélé des altérations d'expression significatives de 100 gènes. Trois quarts de ces gènes montrent une expression augmentée chez les souris KO-*Rsk2* et le quart restant une expression diminuée. Une analyse avec « Ingenuity Pathway Analysis » a identifié cinq réseaux de gènes plus particulièrement affectés. Le réseau avec le score le plus élevé est associé avec le cycle cellulaire et la prolifération cellulaire. Les autres réseaux sont associés au développement et la fonction du système nerveux, ou à la mort cellulaire. Nous avons plus particulièrement étudié les mécanismes liés à certains de ces gènes pouvant être impliqués dans l'activité synaptique.

Altération de la neurotransmission basale AMPA

Le gène *Gria2*, qui est surexprimé (d'environ deux fois) chez les souris *KO-Rsk2*, code pour la sous-unité GluR2 du récepteur ionotropique AMPA. Ce récepteur est impliqué dans la composante rapide du courant exciteur post-synaptique des neurones du système nerveux central. Les récepteurs AMPA ont aussi un rôle crucial dans le développement neuronal et la plasticité synaptique. Nous avons confirmé le niveau élevé d'expression de GluR2 dans l'hippocampe des souris *KO-Rsk2* par hybridation *in situ*. Nous avons montré que le niveau d'édition du site R/G (codon 764) du messenger GluR2 était significativement plus faible (43 % +/-3 %) que chez les souris WT de mêmes fratries. De même le ratio des formes alternatives « Flip/Flop » (épissage alternatif de deux exons) est diminué chez les souris *KO-Rsk2*. Le site éditeur R/G et les cassettes flip/flop jouent un rôle important dans la désensibilisation du récepteur. Ces résultats suggèrent que *Rsk2* joue un rôle dans les mécanismes d'épissage alternatif et d'édition du mRNA GluR2. En collaboration avec Nathalie Rouach (Collège de France) nous avons réalisé des expériences d'enregistrement extracellulaire de la transmission synaptique AMPA. Les résultats montrent une réduction d'environ 20 % de la transmission AMPA chez les souris *KO* par rapport aux WT, mais la libération de glutamate présynaptique n'est pas altérée (Mehmood *et al.* 2011). Nous venons de montrer que la transmission NMDA était également altérée, et cherchons à identifier les causes.

Altération de l'activité de ERK 1/2 dans l'hippocampe de la souris mRsk2_KO

Interpellés par le fait que la majorité des gènes identifiés par notre étude transcriptomique avait un niveau d'expression augmenté chez les souris *Rsk2-KO*, nous avons réalisé une étude de la signalisation ERK1/2. Nous avons ainsi montré que le niveau d'activité de ERK1/2 était anormalement élevé dans l'hippocampe des souris *KO-mrsk2*. Des études basées sur des cultures primaires de neurones d'hippocampe ont par la suite montré que le glutamate activait ERK1 / 2 et *Rsk2*, et confirmé la plus forte activation de ERK1 / 2 dans les neurones *mrsk2 KO*. Nos données montraient que dans les conditions normales, *Rsk2* exerce une rétro-inhibition sur la voie ERK1 / 2, et que cette rétro-inhibition est absente dans les cellules n'exprimant pas *Rsk2*. En outre, les facteurs de transcription CREB et Elk1, deux cibles nucléaires de ERK1/2, montraient également un niveau d'activation anormalement élevé dans les neurones déficients en *Rsk2*. Finalement, l'induction après stimulation par du glutamate de *c-Fos*, *Zif268* et *Arc*, 3 gènes immédiats précoces régulés par ces facteurs de transcription, était significativement plus importante dans les neurones *mrsk2 KO*. Cette altération de la signalisation par ERK1 / 2, due à l'absence de *Rsk2*, est susceptible d'influencer diverses fonctions neuronales, et donc de jouer un rôle important dans le dysfonctionnement cognitif chez les souris *mrsk2 KO* et dans le syndrome de Coffin-Lowry (Schneider *et al.*, 2011).

Mécanisme moléculaire de la surexpression de GluR2

Pour étudier les causes de la surexpression de GluR2 dans les cellules déficientes en *RSK2*, nous avons utilisé des cellules PC12 dans lesquelles nous avons inhibé l'expression de *RSK2* par transfection avec un shRNA. Cette inhibition conduit également à une augmentation de l'activité de ERK1 / 2 ainsi que de l'expression

de GluR2. Nous avons montré que l'augmentation de l'expression du gène GluR2 résulte de l'activité accrue de ERK1 / 2 sur le facteur de transcription Sp1. Des résultats préliminaires suggèrent que ce mécanisme de régulation transcriptionnelle de GluR2 est similaire dans l'hippocampe de souris et dans les cellules PC12 (Mehmood *et al.*, soumis).

Rôles de RSK2 dans l'habenula

Le haut niveau d'expression de RSK2 dans l'habenula de souris, nous a poussé à rechercher des fonctions particulières de RSK2 dans cette structure cérébrale. Une collaboration avec l'équipe de Brigitte Kieffer (IGBMC) a montré que les souris Rsk2-KO étaient incapables d'associer un contexte spécifique à un stimulus aversif (injection de lithium), indiquant un rôle de RSK2 dans l'aversion de place conditionnée. D'autre part, l'analgésie aigüe induite par la morphine est également altérée chez ces souris, indiquant un rôle de RSK2 dans la réponse nociceptive. L'injection par stéréotaxie de virus AAV exprimant un siRNA ciblant RSK2 nous a permis de montrer que l'habenula médian jouait un rôle essentiel dans ces deux dysfonctions (Darcq *et al.* 2011).

3) Pathophysiologie des maladies neuromusculaires : myopathies congénitales à centralisation des noyaux

(Équipe dirigée par Jocelyn Laporte).

Nous étudions les mécanismes pathologiques et les gènes impliqués dans plusieurs maladies neuromusculaires, en particulier les myopathies centronucléaires ou myotubulaires. Les myopathies centronucléaires (CNM) regroupent des myopathies rares caractérisées par une grande proportion de fibres musculaires atrophiques à noyaux centraux (les noyaux étant normalement périphériques dans les fibres musculaires matures). Les CNM sont regroupées en trois classes, et nous avons participé à l'identification des trois gènes impliqués jusqu'à présent : la phosphatase à phosphoinositides myotubularine (MTM1) est mutée dans la forme liée au chromosome X (aussi appelée myopathie myotubulaire), l'amphiphysine 2 (BIN1) est mutée dans des formes autosomiques récessives, et la GTPase dynamine 2 (DNM2) est impliquée dans la forme autosomique dominante.

Ces trois protéines (myotubularine, amphiphysine 2 et dynamine 2) sont impliquées dans le remodelage et le trafic des membranes. Notre équipe étudie les bases génétiques de plusieurs myopathies congénitales, les fonctions cellulaires des protéines impliquées, et valide des modèles animaux afin de caractériser les mécanismes pathologiques et de tester des approches thérapeutiques.

Bases génétiques des myopathies

Afin de faciliter le diagnostic moléculaire de la myopathie myotubulaire, la forme la plus fréquente et la plus sévère des myopathies centronucléaires, nous avons établi de nouveaux anticorps ainsi que des protocoles de Western blot et RT-PCR permettant la détection de mutations introniques non détectable par séquençage des séquences codantes à partir d'ADN (Tosch *et al.*, *Neuromusc. Disord.* 2010). Ce protocole a été transféré au laboratoire de diagnostic génétique (V. Biancalana).

Nous avons précédemment identifié des mutations de BIN1 dans des cas autosomiques de myopathies centronucléaires. Nous avons montré qu'il existe une hétérogénéité phénotypique à l'intérieur d'une famille et que d'autres tissus que les muscles squelettiques semblent affectés (Böhm *et al.*, *Orphanet J Rare Dis.*, 2010). Nous avons montré que BIN1 code pour de nombreux transcripts et que l'exon 11 est spécifique du muscle squelettique (Toussaint *et al.*, *Acta Neuropathol.* 2011), ce qui en faisait un candidat pour une autre myopathie congénitale à centralisation des noyaux due à des anomalies d'épissage : la dystrophie myotonique de Steinert qui est un diagnostic différentiel avec la myopathie myotubulaire. En collaboration avec l'équipe de N Charlet-Berguerand, nous avons montré que l'exon 11 est anormalement exclu des transcripts de BIN1 dans cette myopathie, suggérant que des défauts de BIN1 seraient à l'origine de l'atrophie et de la centralisation des noyaux dans cette myopathie (Fugier *et al.*, *Nat. Med.* 2011).

Fonctions cellulaires impliquées dans les myopathies centronucléaires

Nous avons établi un lien inattendu entre les myopathies centronucléaires et les myopathies à desmine en caractérisant le complexe myotubularine-desmine qui est spécifique du muscle squelettique (Hnia *et al. J. Clin. Invest.* 2011 ; Hnia and Laporte, *Med. Sci.* 2011). Des mutations touchant ces deux protéines déstabilisent le complexe. Nous suggérons aussi que ce complexe est impliqué dans la régulation de la dynamique mitochondriale et donc que des anomalies des mitochondries pourraient être à l'origine d'une partie des phénotypes de ces myopathies. Il existe d'ailleurs une agrégation de la desmine et des mitochondries dans la myopathie myotubulaire.

Une collaboration avec l'équipe de M. Hengartner a permis de mettre en évidence un rôle de la myotubularine dans le trafic membranaire lors de la phagocytose dans le nématode *C. elegans* (Neukomm *et al. Development* 2011).

Modèles animaux des myopathies centronucléaires et approches thérapeutiques

Nous avons validé et caractérisé deux nouveaux modèles de myopathies centronucléaires. Nous avons montré qu'un modèle spontané canin de myopathie myotubulaire est dû à une mutation faux sens de MTM1 (Beggs/Böhm *et al. PNAS* 2010). Comme ce modèle canin reproduit les défauts clinico-histologiques retrouvés chez les patients, il représente un très bon modèle pour des essais thérapeutiques. D'autre part, nous avons utilisé des Adeno-associated virus (AAV) pour surexprimer dans des muscles de souris adultes la dynamine 2 humaine portant la mutation majoritaire causant la myopathie centronucléaire dominante. Cette expression exogène reproduit les anomalies histologiques retrouvées chez les patients ainsi qu'une perte de force musculaire (Cowling *et al. Am J Pathol.* 2011). Ces résultats suggèrent que la maladie est due à un défaut primaire musculaire et à une perte de la maintenance de la structure des fibres adultes et non à un défaut développemental. De plus, comme la surexpression de la dynamine 2 sauvage avec le même système induit un phénotype similaire quoique moins fort, nous en déduisons que la mutation DNM2 majoritaire produit un gain de fonction et écartons donc l'hypothèse de l'haploinsuffisance.

Nous avons aussi utilisé les AAV pour réintroduire le gène *MTM1* dans notre modèle murin *MTM1 KO* et montrant que cette thérapie génique corrige les défauts d'agrégation de desmine et de mitochondries (Hnia *et al. J. Clin. Invest.* 2011).

Des analyses comparées des modèles murin et canin *MTM1* et de biopsies musculaires de patients atteints des 3 formes de myopathies centronucléaires (mutations *MTM1*, *BIN1* ou *DNM2*) suggèrent que des défauts des triades, impliquées dans le couplage excitation-contraction et le signal calcique, sont un mécanisme commun aux trois formes (Toussaint *et al. Acta Neuropathol.* 2011).

Certains signes de la myopathie myotubulaire rappellent les syndromes myasthéniques dus à des défauts de la jonction neuromusculaire. Un traitement avec un inhibiteur de l'acétylcholine esterase semble améliorer le phénotype de plusieurs patients (Robb *et al. Neuromusc. Disord.* 2011).

4) Étude des bases moléculaires de syndromes à ARN toxiques : dystrophies myotoniques et syndrome de tremblement et ataxie associé à l'X fragile

(Nicolas Charlet-Berguerand)

Notre équipe étudie des maladies causées par l'accumulation d'ARN mutés qui séquestrent des protéines spécifiques. Ainsi, les dystrophies myotoniques (DM), qui sont les formes adultes les plus communes de dystrophies musculaires, sont causées par l'accumulation d'ARN contenant de longues répétitions des nucléotides CUG (DM de type 1) ou CCUG (DM de type 2) qui séquestrent le facteur d'épissage muscleblind (*MBNL1*). Au contraire, le syndrome FXTAS, une maladie neurodégénérative qui touche les parents des enfants atteints du retard mental lié à l'X est due à l'accumulation d'un ARN contenant entre 50 et 200 répétitions CGG qui séquestrent des protéines encore mal identifiées.

Nos principaux objectifs sont d'identifier les causes moléculaires des symptômes, observés chez les patients atteints de dystrophie myotonique et de FXTAS. Ainsi, en collaboration avec l'équipe du Dr. Denis Furling (Institut de Myologie, Paris) et du Dr. Jocelyn Laporte (IGBMC), nous avons mis en évidence une altération spécifique de l'épissage des transcrits *BIN1* chez les patients DM. Il est à noter que des souris reproduisant cette altération de l'expression de *BIN1* développent une faiblesse musculaire évoquant celle observée chez les patients DM (Fugier *et al., Nat. Medicine* 2011). De plus, nous avons identifié une altération spécifique de la maturation du microARN *miR-1* dans des échantillons de cœur de patients DM1, démontrant ainsi que *MBNL1* est aussi un facteur impliqué dans la maturation des pré-miARN. Cette altération de *miR-1* pourrait expliquer en partie les arythmies et les troubles de la conduction cardiaque observée chez les patients atteints de dystrophie myotonique (Rau *et al., NSMB* 2011). Enfin, nous avons montré que les agrégats d'ARN contenant des répétitions CGG chez les patients FXTAS séquestraient le facteur d'épissage *SAM68* (Sellier *et al., EMBO J.* 2010), mais aussi les protéines *DROSHA* et *DGCR8*. Ces protéines sont indispensables à la maturation des microARN et leur séquestration pourrait expliquer la neurodégénérescence observée chez les patients FXTAS (Sellier *et al., soumis à Mol. Cell.* 2011).

Nos principaux projets portent sur l'étude des causes moléculaires des différences entre DM1 et DM2 avec l'identification d'une protéine (*FOX1*) se liant seulement aux répétitions CCUG (causes des DM2) et non aux répétitions CUG (DM1), sur

l'établissement de nouveaux modèles cellulaires pour FXTAS avec le développement de cellules iPS différenciées en neurones en collaborations avec les équipes de Stéphane Viville (IGBMC) et de Cécile Martinat (I-stem, Paris), sur de nouveaux modèle murins des dystrophies myotoniques basés sur des virus AAV exprimant des répétitions CUG ou CCUG (collaboration avec Denis Furling, Institut de Myologie, Paris) et enfin sur la recherche de molécules pouvant éliminer l'effet toxique des répétitions CUG ou CGG.

5) Mécanismes normaux et pathologiques impliqués dans les ataxies récessives avec dysfonction mitochondriale

(Équipe dirigée par Hélène Puccio)

Notre équipe s'intéresse aux mécanismes physiopathologiques de trois ataxies récessives liées à un déficit mitochondrial ainsi qu'à la fonction normale des protéines déficientes. Nous combinons des approches *in vivo* par la construction et l'étude de modèles murins et de modèles cellulaires, avec des approches biochimiques *in vitro*.

Les ataxies héréditaires constituent un groupe hétérogène de pathologies neurodégénératives caractérisées par des anomalies de coordination des mouvements associées à des troubles de l'équilibre et de la marche. Cette perturbation de la coordination des mouvements volontaires peut-être soit due à une atteinte du cervelet et de ses connections afférentes et efférentes, soit due à une atteinte des voies proprioceptives. Depuis 15 ans, 14 gènes responsables d'ataxies récessives dégénératives ont été identifiés. L'étude des fonctions des protéines codées par ces gènes a un intérêt majeur pour la compréhension des mécanismes physiopathologiques et l'orientation des stratégies thérapeutiques.

Notre équipe travaille depuis plusieurs années sur la physiopathologie de l'ataxie de Friedreich, la plus fréquente des ataxies héréditaires. L'ataxie de Friedreich (AF) est une maladie autosomique récessive gravement invalidante, caractérisée par une dégénérescence spino-cérébelleuse et une cardiomyopathie hypertrophique. Elle est due à la diminution quantitative d'une protéine mitochondriale, la frataxine, qui entraîne un déficit fonctionnel des protéines à noyau fer-soufre (Fe-S) et une accumulation intramitochondriale de fer. Nous avons créé des modèles souris de l'ataxie de Friedreich, par inactivation conditionnelle spatio-temporelle du gène de la frataxine (Puccio *et al.* 2001 ; Simon *et al.* 2004). Ces modèles reproduisent l'essentiel des caractéristiques physiopathologiques et biochimiques de la pathologie humaine. Ils ont permis de montrer que le déficit en protéines à centre Fe-S était une conséquence primaire du déficit en frataxine et que l'accumulation de fer était secondaire, et que la frataxine est nécessaire pour la biogenèse d'enzymes Fe-S nucléaires et cytosoliques (Martelli *et al.* 2007).

Fonction de la frataxine dans l'assemblage des centres Fe-S

Afin de déterminer la fonction de la frataxine, nous avons entrepris des analyses d'interactions par des approches combinant immunoprécipitations, « GST pull-downs » et spectrométrie de masse. Nous avons montré que la frataxine interagit majoritairement avec les composants de la machinerie de biosynthèse des centres Fe-S. La frataxine interagit de manière stable avec un complexe préformé composé

des 3 protéines NFS1, ISD11 et ISCU, la cystéine désulfurase qui donne le soufre et la protéine échafaudage pour l'assemblage. Le complexe quaternaire (FXN/ISCU/NFS1/ISD11) peut être isolé dans une forme stable. Nos expériences démontrent que la frataxine active la cystéine désulfurase. Nos résultats *in vivo* suggèrent que l'interaction de la frataxine avec ce complexe définit la fonction essentielle de la frataxine. Par ailleurs, nos données fournissent la première preuve que la frataxine humaine monomérique est la forme fonctionnelle essentielle de la frataxine *in vivo*. Nous proposons donc que la frataxine joue un rôle de régulateur de la biosynthèse des centres Fe-S (Schmucker *et al.* 2011).

Modélisation de l'ataxie de Friedreich par le développement de cellules souches pluripotentes induites portant des expansions (GAA)_n pathogéniques

Nous avons entrepris la génération de cellules souches pluripotentes induites (iPS) et leur différenciation en divers types de cellules pour obtenir de nouveaux modèles cellulaires de l'AF à partir de fibroblastes de patients. Cette stratégie est particulièrement intéressante dans le cas de l'AF car la mutation est une expansion de répétitions (GAA)_n qui montre une forte instabilité génétique, très difficile à modéliser dans la souris. En collaboration avec S. Viville (IGBMC), deux fibroblastes de patients atteints d'AF et deux contrôles sains ont été reprogrammés en cellules iPS. Ces cellules iPS ont été validées par tous les critères standard d'une telle reprogrammation de bonne foi (morphologie, expression des gènes, analyse de tératomes). Ces cellules iPS montrent une forte instabilité des répétitions (GAA)_n, présentant à la fois des expansions et des contractions. Les cellules iPS issues de patients montrent une expression réduite de la frataxine. Les cellules iPS ont été différenciées en progéniteurs neuronaux et en neurones ainsi qu'en cardiomyocytes. Les cardiomyocytes dérivés des iPS AF montrent un phénotype AF avec un dysfonctionnement des mitochondries et une accumulation de fer intramitochondriale. Ces modèles seront des outils précieux pour étudier les conséquences du déficit en frataxine ainsi que les mécanismes de l'inactivation génique due à l'expansion (GAA)_n.

Les iPS contrôles ont été utilisées pour dériver une lignée érythrocytaire en collaboration avec l'équipe du Prof. Douay (INSERM UMR S938) (Lapapillone *et al.* 2010).

Un événement moléculaire clé conduisant à l'accumulation mitochondriale de fer dans les modèles AF

La déplétion en frataxine chez les patients atteints d'AF, dans les modèles souris ou dans la levure déclenche une dérégulation du métabolisme du fer et l'accumulation de fer mitochondriale. Afin de mieux déterminer le rôle de la frataxine dans le métabolisme général du fer, nous avons généré un modèle murin hépatique déficient en frataxine (modèle ALB). Le modèle ALB affiche un phénotype sévère, conduisant à la mort prématurée des souris avant 10 semaines. En mesurant les activités de la protéine ISC, nous avons montré que sa biosynthèse était déjà très affectée à deux semaines, alors qu'aucune anomalie ultrastructurale, de la transcription ou d'accumulation de fer mitochondrial n'a pu être observée à cet âge. Un phénotype hépatique sévère apparaît entre 3 et 4 semaines chez les souris mutantes, avec des défauts mitochondriaux, une stéatose ainsi qu'une accumulation de fer mitochondriale drastique. Nous avons évalué dans ce modèle l'expression des gènes associés au

métabolisme du fer ainsi que l'activité des IRPs, protéines régulatrices de l'homéostasie du fer. Nos résultats suggèrent que l'activation d'IRP1 résultant du déficit en ISC, est un événement moléculaire clé expliquant la dérégulation du fer cellulaire. Nous croisons actuellement ces souris avec des souris knockout pour IRP1 afin de valider notre hypothèse.

Développement de modèles murins pour une nouvelle forme d'ataxie récessive : ARCA2

Le gène ADCK3 est impliqué dans une nouvelle forme d'ataxie récessive associée à un déficit en Coenzyme Q10 (CoQ10), ARCA2 (Autosomal recessive cerebellar ataxia type 2). Les patients présentent une ataxie cérébelleuse modérée débutant avant l'adolescence et une atrophie cérébelleuse. ADCK3 est une kinase mitochondriale atypique impliquée dans la régulation de la synthèse du coenzyme Q10, un lipide essentiel au transport d'électrons dans la chaîne respiratoire mitochondriale.

Afin d'étudier le rôle de ce gène *in vivo* et de créer un modèle pour cette maladie, nous avons généré un modèle murin par recombinaison homologe. La délétion constitutive d'*Adck3* n'entraîne pas de létalité embryonnaire. L'analyse du comportement locomoteur a montré la présence d'une ataxie à partir de 10 semaines d'âge sans déficience musculaire. Les analyses histologiques montrent une dégénérescence spécifique des cellules de Purkinje du cervelet. Ce modèle d'ARCA2 sera utile pour déterminer les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la maladie et répondre aux questions plus générales concernant la neurodégénérescence liée à un déficit de CoQ10.

6) Génétique moléculaire des ataxies récessives

(Équipe dirigée par M. Koenig)

Nous avons poursuivi nos études visant à caractériser au plan génétique les ataxies récessives par l'identification de nouveaux gènes, la caractérisation de corrélations génotype-phénotype et les applications au diagnostic et à la prise en charge médicale. Nous avons collaboré à l'identification du gène responsable de l'ataxie cérébelleuse autosomique récessive de type 3, ARCA3 (Vermeer S *et al.* AJHG, 2010). Par étude de liaison génétique et cartographie d'homozygotie, Mirna Assoum avait localisé sur le bras court du chromosome 3 le gène défectueux dans une famille consanguine serbe avec trois enfants atteints d'ataxie récessive. L'équipe de S. Vermeer et N. Knoers avait identifié une famille consanguine hollandaise, également avec trois enfants atteints, liée à un intervalle inclus dans notre intervalle de liaison. Le séquençage à très haut-débit du petit intervalle de liaison a révélé une mutation faux-sens du gène ANO10 dans la famille hollandaise, confirmée par l'identification d'une délétion de deux nucléotides, responsable d'un décalage du cadre de lecture du gène ANO10 dans la famille serbe. Le gène ANO10 (anoctamin 10) code pour une protéine avec une fonction prédite de canal chlore calcium-dépendant. Le séquençage du gène ANO10 dans une cohorte de 282 patients avec ataxie a identifié une famille supplémentaire, avec deux enfants atteints, porteurs hétérozygotes composites d'une mutation non-sens et d'une mutation d'épissage. L'étude de ces trois familles permet de définir un nouveau syndrome, ARCA3,

assez homogène, comprenant une ataxie débutant chez l'adolescent ou l'adulte jeune (entre 13 et 32 ans), une dysarthrie, un nystagmus horizontal et vertical, des saccades oculaires lentes et hypermétriques, des réflexes vifs aux quatre membres, mais sans signe de Babinski (irritation pyramidale), et une atrophie cérébelleuse sévère à l'IRM. Depuis la publication de cet article, nous avons identifié une nouvelle mutation d'épissage homozygote, dans une famille avec deux enfants atteints. L'analyse clinique de cette famille confirme l'homogénéité phénotypique de ce nouveau syndrome.

Nous avons identifié 6 patients avec ataxie de Friedreich présentant une délétion de un à deux exons du gène *FRDA* sur un chromosome et expansion du trinucléotide GAA sur l'autre allèle. Jusqu'à présent, un seul cas de ce type avait été décrit (Zühlke CH *et al.* *EJHG*, 2004). Nous avons montré que ces cas représentent des formes sévères d'ataxie avec début précoce, en raison de l'absence de synthèse de frataxine à partir du gène portant la délétion (Anheim M *et al.* *Archives of Neurology*, sous presse).

Nous avons initié la recherche de nouveaux gènes d'ataxie par séquençage haut débit de l'exome de patients issus de familles consanguines avec plusieurs enfants atteints. Nous avons identifié une variation faux-sens d'un acide aminé hautement conservé dans la famille avec ataxie et épilepsie que nous avions précédemment décrite (Gribaa *et al.* 2007). L'analyse fonctionnelle de la mutation est en cours.

7) Maladies à expansion de polyglutamine

(Yvon Trottier, avec K. Mérienne)

L'équipe étudie la physiopathologie de la maladie de Huntington (MH) et de l'ataxie spinocérébelleuse de type 7 (SCA7). Ces deux maladies neurodégénératives à transmission dominante sont dues à une expansion de répétitions CAG codant pour un homopolymère de glutamines (polyQ) dans des protéines cibles spécifiques de chaque maladie. Les protéines sauvages portent une polyQ polymorphe, toutefois l'expansion au-delà 36-39 résidus confère un gain de propriété toxique, qui augmente avec la taille de la polyQ, et qui perturbe graduellement les mécanismes essentiels à la fonction et la survie des neurones, avec une spécificité d'atteinte neuronale qui diffère selon la maladie.

Relations entre la structure, la fonction et la toxicité des polyQ

Il est communément accepté qu'au-delà 36-39 glutamines, le seuil de toxicité, la polyglutamine adopte une « conformation pathogénique » stable, qui promeut d'une part, l'agrégation des protéines mutées, et d'autre part, des interactions aberrantes avec des partenaires protéiques naturels. Cependant, plusieurs études récentes, incluant une des nôtres, montrent que les courtes et longues polyglutamines ont des propriétés structurales, physiques et de toxicité comparables *in vitro* et dans les organismes modèles, remettant en question l'hypothèse de conformation pathogénique.

Dans une étude récente (Davranche *et al.* 2011), nous avons cherché à comprendre quels étaient les mécanismes à la base des interactions aberrantes rapportées entre la huntingtine (Htt) mutée (impliquée dans la MH) et certains partenaires. En collaboration avec le Dr. D. Altschuh (ESBS, Illkirch), nous avons étudié les interactions en utilisant une technique biophysique de haute précision, la résonance

plasmonique de surface (BIAcore). Précédemment, seules avaient été utilisées des techniques peu quantitatives et sensibles à la présence d'agrégats, telles que le GST-pull down, le système double hybride dans la levure, ou l'immunoprécipitation. Contrairement aux études antérieures, nous avons pris soin de travailler avec des protéines recombinantes hautement caractérisées, *i.e.* solubles, monomériques et sans agrégats. Notre étude a indiqué que la taille de la polyQ n'influence pas l'affinité de la Htt pour ses partenaires. Par ailleurs, nous avons montré qu'en présence d'agrégats de la Htt, la distribution spatiale et la solubilité des interacteurs étaient très affectées *in vitro*, biaisant ainsi les résultats de pull down. Par conséquent, nos résultats remettent en cause les interprétations de nombreuses études publiées, effectuées dans des conditions où l'absence d'agrégats n'avait pas été strictement contrôlée.

Nos résultats mènent à deux conclusions : i) l'expansion de polyQ en soi ne modifie pas les interactions de la Htt, ce qui va à l'encontre de l'hypothèse de « conformation pathogénique », et ii) les agrégats de Htt mutée composent une « plate-forme moléculaire » qui affecte la localisation et la solubilité des partenaires, pouvant ainsi altérer une partie de l'interactome de la Htt. Notre étude suggère qu'inhiber l'agrégation de la Htt mutée permettrait de prévenir la dysfonction des interacteurs ainsi que des mécanismes de toxicité directe des agrégats (Davranche *et al.* 2011).

Défauts transcriptionnels dans la MH : implication de Sp1 et REST

(avec K. Merienne)

Dans la MH, il a été montré que plusieurs gènes essentiels à la fonction des neurones étaient fortement réprimés. Ces altérations pourraient être dues au fait que la Htt mutée perturbe la fonction de facteurs régulant la transcription des gènes et la structure de la chromatine. Cependant, la plupart des facteurs dérégulés par la Htt mutée, tels Sp1 ou CBP, sont des facteurs généraux régulant un très grand nombre de gènes neuronaux et non neuronaux. A l'inverse, REST, qui montre une activité anormalement élevée dans la MH, est un facteur de transcription qui réprime spécifiquement l'expression de nombreux gènes neuronaux. L'activité de REST diminue au cours de la différenciation neuronale pour permettre l'expression des gènes neuronaux. Les mécanismes menant à l'activation anormale de REST dans la MH restent mal connus.

Nous avons observé que le niveau d'ARNm de REST était augmenté dans les modèles souris et cellulaire de la MH (Ravache *et al* PLoS One 2010). Nous avons ensuite montré que les facteurs de transcription Sp1 et Sp3 se lient au promoteur de REST et régulent son expression au cours de la différenciation neuronale. Sp1 et Sp3 ont des effets antagonistes dans les cellules non neuronales, Sp1 étant un activateur et Sp3 un répresseur de la transcription de REST. Au cours de la différenciation neuronale, le ratio et le niveau des protéines Sp1/Sp3 déclinent, et corrélaient avec une expression réduite de REST. Cependant, dans les neurones, Sp3 devient un activateur faible de la transcription de REST. Dans un modèle cellulaire de la MH, l'inhibition spécifique de Sp1 rétablit le niveau d'expression de REST à un niveau normal. Nous suggérons que dans la MH la Htt mutée induit une cascade pathogénique impliquant l'activation de Sp1, qui en retour augmente le niveau d'expression de REST, causant ainsi une répression des gènes neuronaux essentiels (Ravache *et al* PLoS One 2010).

Mécanisme d'instabilité des expansions CAG/CTG associées aux maladies à expansion de trinuécléotides

(K. Merienne)

Une quinzaine de maladies neurologiques neurodégénératives ou musculaires, dont la MH, SCA7, la myotonie dystrophique de type 1, l'ataxie de Friedreich et le syndrome de l'X fragile, résultent de l'expansion de répétitions trinuécléotidiques. Cette mutation est instable dans les cellules germinales et somatiques, ce qui favorise l'apparition d'allèles contenant des expansions plus longues et plus toxiques. Le niveau d'instabilité varie cependant entre les différents tissus ou types cellulaires, et cette sélectivité tissulaire/cellulaire de l'instabilité est spécifique de chaque maladie. Ainsi, dans la MH, l'instabilité somatique est particulièrement importante dans le striatum, la région du cerveau qui dégenère aussi préférentiellement, ce qui a pour conséquence d'accélérer le processus pathologique. A contrario, cette instabilité est limitée dans d'autres tissus (comme le cervelet). Les causes de l'instabilité des expansions de triplets sont mal comprises, bien que plusieurs mécanismes associés à la physiologie de l'ADN ou de l'ARN aient été impliqués (réparation de l'ADN, transcription, réplication, régulations épigénétiques). En particulier, les déterminants moléculaires de la sélectivité tissulaire ou cellulaire de l'instabilité des expansions de triplets ne sont pas connus. Nous cherchons à identifier des mécanismes responsables de cette sélectivité tissulaire et nous utilisons dans ce but des modèles murins de la MH, qui récapitulent la physiopathologie et la sélectivité tissulaire de l'instabilité observées chez les patients.

Nous nous intéressons au rôle des lésions oxydantes et au mécanisme de réparation par excision de base (BER) dans l'instabilité des expansions CAG. Nous avons montré que le niveau d'instabilité n'est pas corrélé à la quantité de lésions au niveau des répétitions de triplets, mais corrèle avec les niveaux protéiques et activités associées des enzymes du BER (Goula *et al.* 2009). Nous avons cherché à préciser le rôle de la stœchiométrie des enzymes du BER dans la sélectivité tissulaire de l'instabilité. Dans ce but, nous avons déterminé la stœchiométrie de protéines majeures du BER dans deux tissus présentant des niveaux d'instabilité opposés (le striatum et le cervelet). En collaboration avec D. Wilson et A. Tomkinson (Baltimore, États-Unis) et C. Pearson (Toronto, Canada), nous avons utilisé un système de réparation *in vitro* utilisant un substrat oligonucléotidique contenant une lésion et des répétitions CAG/CTG et un mélange de protéines du BER purifiées (dont la stœchiométrie est celle du striatum ou du cervelet). Nos résultats montrent que la stœchiométrie des enzymes du BER, la position de la lésion et la séquence nucléotidique du substrat influencent efficacité et modalité de la réparation (Goula *et al.*, soumis pour publication). Nos résultats suggèrent ainsi que la stœchiométrie des enzymes du BER contribue à l'instabilité des expansions CAG/CTG.

En collaboration avec R. Festenstein (Londres), nous étudions également le rôle de la transcription et des mécanismes épigénétiques dans la sélectivité tissulaire de l'instabilité des expansions de trinuécléotides, en utilisant différentes lignées de souris modélisant la MH. Nos résultats, qui reposent principalement sur des expériences d'immunoprécipitation de la chromatine et des études d'expression, indiquent qu'une chromatine accessible est nécessaire mais pas suffisante pour induire de l'instabilité. De plus, ils indiquent que la dynamique de l'étape d'élongation de la transcription joue un rôle important dans l'instabilité des expansions CAG/CTG *in vivo* et participe à la spécificité tissulaire du processus (Goula *et al.* Soumis pour publication).

RESPONSABILITÉS ET DISTINCTIONS (J.L. MANDEL)

Jean-Louis Mandel est coordonnateur, depuis juin 2010, du Département de Médecine translationnelle et Neurogénétique de l'IGBMC. Il a assuré de décembre 2008 à avril 2011 les fonctions de Président de la Fondation Jean Dausset – Centre d'Étude du Polymorphisme Humain (Paris) et de Président du Conseil scientifique de la Fondation ELA (European Leucodystrophy Association). Il est représentant du Collège de France au Conseil Scientifique de la Fondation Louis Jeantet (Genève).

PUBLICATIONS DU GROUPE DE GÉNÉTIQUE HUMAINE DE L'IGBMC

Publications dans des revues internationales avec comité de lecture

Assoum M., Salih M.A., Drouot N., H'Mida-Ben Brahim D., Lagier-Tourenne C., Aldrees A., Elmalik S.A., Ahmed T.S., Seidahmed M.Z., Kabiraj M.M., Koenig M., « Rundataxin, a novel protein with RUN and diacylglycerol binding domains, is mutant in a new recessive ataxia ». *Brain*, 133(8), août 2010, 2439-47.

Beggs A.H.*, Böhm J.*, Snead E., Kozlowski M., Maurer M., Minor K., Childers M.K., Taylor S.M., Hitte C., Mickelson J.R., Guo L.T., Mizisin A.P., Buj-Bello A., Tiret L., Laporte J., Shelton D.G., « *MTM1* Mutation Associated with X-Linked Myotubular Myopathy in Labrador Retrievers », *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(33), 17 août 2010, 14697-702. (*equal contributors).

Böhm J., Yiş U., Ortaç R., Çakmakçı H., Kurul S.H., Dirik E., Laporte J., « Case report of Intrafamilial variability in autosomal recessive centronuclear myopathy with a novel BIN1 stop mutation », *Orphanet J. Rare Dis.*, 5, 3 déc 2010, 35.

Cossée M., Faivre L., Philippe C., Hichri H., de Saint-Martin A., Laugel V., Bahi-Buisson N., Lemaitre J.F., Leheup B., Delobel B., Demeer B., Poirier K., Biancalana V., Pinoit J.M., Julia S., Chelly J., Devys D., Mandel J.L., « ARX polyalanine expansions are highly implicated in familial cases of mental retardation with infantile epilepsy and/or hand dystonia », *Am J. Med. Genet. A.*, 155A(1), janvier 2011, 98-105.

Cowling B.S., Toussaint A., Amoasii A., Koebel P., Ferry A., Davignon L., Nishino I., Mandel J.L., Laporte J., « Increased expression of wild-type or a centronuclear myopathy mutant of dynamin 2 in skeletal muscle of adult wild-type mice leads to structural defects and muscle weakness », *Am. J. Pathol.*, 178(5), mai 2011, 2224-35.

Davranche A., Aviolat H., Zeder-Lutz G., Busso D., Altschuh D., Trottier Y.#, Klein F.A.#, « Huntingtin Affinity for Partners is not Changed by PolyQ Length – Aggregation Itself Triggers Aberrant Interactions », *Hum. Mol. Genet.*, 9 mai 2011, *Must Read by the Faculty of 1000* (#co-corresponding).

Dujardin G., Buratti E., Charlet-Berguerand N., Martins de Araujo M., Mbopda A., Le Jossic-Corcoss C., Pagani F., Ferec C., Corcoss L., « CELF proteins regulate CFTR pre-mRNA splicing: essential role of the divergent domain of ETR-3 », *Nucleic Acids Res.*, 38(20), 2010, 7273-7285

Fiskerstrand T., H'Mida-Ben Brahim D., Johansson S., M'Zahem A., Haukanes B.I., Drouot N., Zimmermann J., Cole A.J., Vedeler C., Bredrup C., Assoum M., Tazir M., Klockgether T., Hamri A., Steen V.M., Boman H., Bindoff L.A., Koenig M., Knappskog P.M., « Mutations in ABHD12 cause the neurodegenerative disease PHARC: An inborn error of endocannabinoid metabolism », *Am. J. Hum. Genet.*, 87(3), 2010, 410-417.

Fourcade S., Ruiz M., Guilera C., Hahnen E., Brichta L., Naudi A., Portero-Otin M., Dacremont G., Cartier N., Wanders R., Kemp S., Mandel J.L., Wirth B., Pamplona R., Aubourg P., Pujol A., « Valproic acid induces antioxidant effects in X-linked adrenoleukodystrophy », *Hum. Mol. Genet.*, 19(10), 2010, 2005-2014.

Fradin M., Stoetzel C., Muller J., Koob M., Christmann D., Deby C., Kohler M., Isnard M., Astruc D., Desprez P., Zorres C., Flori E., Dollfus H., Doray B., « Osteosclerotic bone dysplasia in sibs with a Fam20C mutation », *Clin. Genet.*, 80(2, SI), 2011, 177-183.

Fugier C., Klein A., Hammer C., Vassilopoulos S., Ivarsson Y., Toussaint A., Tosch V., Vignaud A., Ferry A., Messaddeq N., Kokunai Y., Tsuburaya R., de la Grange P., Dembele D., Francois V., Precigout G., Boulade-Ladame C., Hummel M.C., Lopez de Munain A., Sergeant N., Laquerrière A., Thibault C., Deryckere F., Auboeuf D., Garcia L., Zimmermann P., Udd B., Schoser B., Takahashi M., Nishino I., Bassez G., Laporte J., Furling D., Charlet-Berguerand N., « Mis-regulation of the alternative splicing of *BINI* is associated with T-tubule alterations and muscle weakness in Myotonic Dystrophy », *Nature Medicine*, 17(6), juin 2011, 720-5.

H'mida-Ben Brahim D., M'zahem A., Assoum M., Bouhlal Y., Fattori F., Anheim M., Ali-Pacha L., Ferrat F., Chaouch M., Lagier-Tourenne C., Drouot N., Thibaut C., Benhassine T., Sifi Y., Stoppa-Lyonnet D., N'Guyen K., Poujet J., Hamri A., Hentati F., Amouri R., Santorelli F.M., Tazir M., Koenig M., « Molecular diagnosis of known recessive ataxias by homozygosity mapping with SNP arrays », *J. Neurol.*, 258(1), jan 2011, 56-67.

Hnia K., Tronchere H., Tomczak K.K., Amoasii L., Schultz P., Beggs A.H., Payrastra B., Mandel J.L., Laporte J., « Myotubularin controls desmin intermediate filament architecture and mitochondrial dynamics in human and mouse skeletal muscle », *J. Clin. Invest.*, 121(1), 2011, 70-85, Cited in *Faculty 1000*.

Isidor B., Lindenbaum P., Pichon O., Bézieau S., Dina C., Jacquemont S., Martin-Coignard D., Thauvin-Robinet C., Le Merrer M., Mandel J.L., David A., Faivre L., Cormier-Daire V., Redon R., Le Caignec C., « Truncating mutations in the last exon of *NOTCH2* cause a rare skeletal disorder with osteoporosis », *Nat. Genet.*, 43(4), 2011, 306-8.

Koscinski I., Elinati E., Fossard C., Redin C., Muller J., Velez de la Calle J., Schmitt F., Ben Khelifa M., Ray P., Kilani Z., Barratt C.L., Viville S., « *DPY19L2* Deletion as a Major Cause of Globozoospermia », *Am. J. Hum. Genet.*, 88(3), 11 mars 2011, 344-50.

Lapillonne H., Kobari L., Mazurier C., Tropel P., Giarratana M.C., Zanella-Cleon I., Kiger L., Wattenhofer-Donzè M., Puccio H., Hebert N., Francina A., Andreu G., Viville S. et Douay L., « Red blood cells generation from human induced pluripotent stem cells: perspectives for transfusion medicine », *Haematologica*, 95(10) 2010, 1651-9.

Mehmood T., Schneider A., Sibille J., Marques Pereira P., Pannetier S., Ammar M.R., Dembele D., Thibault-Carpentier C., Rouach N., Hanauer A., « Transcriptome profile reveals AMPA receptor dysfunction in the hippocampus of the *Rsk2*-knockout mice, an animal model of Coffin-Lowry syndrome », *Hum. Genet.*, 129(3), 2011, 255-69.

Micol R., Ben Slama L., Koenig M., Tardieu M., Debré M., Fischer A., Stoppa-Lyonnet D., CEREDIH Network, « Morbidity and mortality from ataxia-telangiectasia are associated with ATM genotype », *J. Allergy Clin. Immunol.*, 128(2), 2011, 382-389.

Muller J., Stoetzel C., Vincent M.C., Leitch C.C., Laurier V., Danse J.M., Helle S., Marion V., Bennouna-Greene V., Vicaire S., Megarbane A., Kaplan J., Drouin-Garraud V., Hamdani M., Sigaudy S., Francannet C., Roume J., Bitoun P., Goldenberg A., Philip N., Odent S., Green J., Cossee M., Davis E.E., Katsanis N., Bonneau D., Verloes A., Poch O., Mandel J.L., Dollfus H., « Identification of 28 novel mutations in the Bardet-Biedl syndrome genes: the burden of private mutations in an extensively heterogeneous disease », *Hum. Genet.*, 127(5), 2010, 583-593.

Neukomm L.J., Nicot A.S., Kinchen J.M., Almendinger J., Pinto S.M., Zeng S., Doukoumetzidis K., Tronchère H., Payrastra B., Laporte J., Hengartner M.O., « The

phosphoinositide phosphatase MTM-1 regulates apoptotic cell corpse clearance through CED-5/CED-12 in *C. elegans* », *Development*, mai 2011, 138(10), 2003-14.

Pereira P.M., Schneider A., Pannetier S., Heron D., Hanauer A., « Coffin-Lowry syndrome », *Eur. J. Hum. Genet.*, 18(6), juin 2010, 627-33.

Quinzii C.M., Lopez L.C., Gilkerson R.W., Dorado B., Coku J., Naini A.B., Lagier-Tourenne C., Schuelke M., Salviati L., Carrozzo R., Santorelli F., Rahman S., Tazir M., Koenig M., DiMauro S., Hirano M., « Reactive oxygen species, oxidative stress, and cell death correlate with level of CoQ10 deficiency », *FASEB J*, 24(10), 2010, 3733-3743.

Rau F., Freyermuth F., Fugier C., Villemin J.P., Jost B., Dembele D., Gourdon G., Nicole A., Duboc D., Wahbi K., Day J.W., Fujimura H., Takahashi M.P., Auboeuf D., Dreumont N., Furling D., Charlet-Berguerand N., « Mis-regulation of miR-1 processing is associated with heart defects in Myotonic Dystrophy », *Nature Structural and Molecular Biology*, 18(7), 19 juin 2011, 840-5.

Ravache M., Weber C., Merienne K., Trottier Y., « Transcriptional activation of REST by Spl1 in Huntington's disease models », *PLoS One*, 2010, 5(12), e14311.

Robb S.A., Sewry C.A., Dowling J.J., Feng L., Cullup T., Lillis S., Abbs S., Lees M.M., Laporte J., Manzur A.Y., Knight R.K., Mills K.R., Pike M.G., Kress W., Jungbluth H., Pitt M.C., Muntoni F., « Impaired neuromuscular transmission and response to AChE inhibitors in centronuclear myopathies », *Neuromuscul. Disord.*, 21(6), juin 2011, 379-86.

Sellier C., Rau F., Liu Y., Tassone F., Hukema R.K., Gattoni R., Schneider A., Richard S., Willemsen R., Elliott D.J., Hagerman P.J., Charlet-Berguerand N., « Sam68 sequestration and partial loss of function are associated with splicing alterations in FXTAS patients », *EMBO J.*, 29(7), 7 avril 2010, 1248-1261.

Schaefer E., Durand M., Stoetzel C., Doray B., Viville B., Helle S., Danse J.M., Hamel C., Bitoun P., Goldenberg A., Finck S., Faivre L., Sigaudy S., Holder M., Vincent M.C., Marion V., Bonneau D., Verloes A., Nisand I., Mandel J.L., Dollfus H., « Molecular diagnosis reveals genetic heterogeneity for the overlapping MKKS and BBS phenotypes », *Eur. J. Med. Genet.*, 54, 2011, 157-160.

Schmucker S., Martelli A., Colin E., Page A., Wattenhofer-Donzé M., Reutenauer L. et Puccio H., « Mammalian frataxin: an essential function for cellular viability through an interaction with a preformed ISCU/NFS1/ISD11 iron-sulfur assembly complex » *PlosOne*, 6(1), 2011, e16199.

Schmucker S. et Puccio H., « Understanding the molecular mechanisms of Friedreich's ataxia to develop therapeutic approaches », *Human Molecular Genetics*, 19(R1), 2010, R103-10.

Subramanian M., Rage F., Tabet R., Flatter E., Mandel J.L., Moine H., « G-quadruplex RNA structure as a signal for neurite mRNA targeting », *EMBO Reports*, 12(7), 2011, 697-704, *Recommended twice by Faculty of 1000 Neurosciences.*

Tosch V., Vasli N., Kretz C., Nicot A.S., Gasnier C., Dondaine N., Oriot D., Barth M., Puissant H., Romero N.B., Bonnemann C., Heller B., Duval G., Biancalana V., Laporte J. « Novel molecular diagnostic approaches for X-linked centronuclear (myotubular) myopathy reveal intronic mutations » *Neuromuscul/ Disord.* 20(6), juin 2010, 375-81.

Toussaint A., Cowling B.S., Hnia K., Mohr M., Oldfors A., Schwab Y., Yis U., Maisonobe T., Stojkovic T., Wallgren-Pettersson C., Laugel V., Echaniz-Laguna A., Mandel J.L., Nishino I., Laporte J., « Defects in amphiphysin 2 (BIN1) and triads in several forms of centronuclear myopathies », *Acta Neuropathol*, 121(2), 2011, 253-266.

Tran H., Gourrier N., Lemercier C., Dhaenens C.M., Vautrin A., Fernandez-Gomez F.J., Arandel L., Carpentier C., Obriot H., Eddarkaoui S., Delattre L., Van Brussels E., Holt I., Morris G.E., Sablonnière B., Buée L., Charlet-Berguerand N., Schraen-Maschke S., Furling D., Behm-Ansmant I., Branlant C., Caillet-Boudin M.L., Sergeant N., « Analysis of

exonic regions involved in nuclear localization, splicing activity, and dimerization of Muscblind-like-1 isoforms », *J. Biol. Chem.*, 286(18), 6 mai 2011, 16435-46.

Vermeer S., Hoischen A., Meijer R.P., Gilissen C., Neveling K., Wieskamp N., de Brouwer A., Koenig M., Anheim M., Assoum M., Drouot N., Todorovic S., Milic-Rasic V., Lochmuller H., Stevanin G., Goizet C., David A., Durr A., Brice A., Kremer B., van de Warrenburg B.P., Schijvenaars M.M., Heister A., Kwint M., Arts P., van der Wijst J., Veltman J., Kamsteeg E.J., Scheffer H., Knoers N., « Targeted next-generation sequencing of a 12.5 Mb homozygous region reveals ANO10 mutations in patients with autosomal-recessive cerebellar ataxia », *Am. J. Hum. Genet.*, 87(6), 2010, 813-819.

Yefimova M.G., Messaddeq N., Karam A., Jacquard C., Weber C., Jonet L., Wolfrum U., Jeanny J.C., Trottier Y., « Polyglutamine toxicity induces rod photoreceptor division, morphological transformation or death in Spinocerebellar ataxia 7 mouse retina », *Neurobiol. Dis.*, 40(1), 2010, 311-324.

Autres Publications

Hnia K., Laporte J., « Myotubularine et Desmine: un complexe au service de la dynamique mitochondriale dans le muscle squelettique », *Med. Sci.*, 27(5), mai 2011, 458-60.

Ravache M., Abou-Sleymane G., Trottier Y., « Neurodegenerative polyglutamine expansion diseases: physiopathology and therapeutic strategies » *Pathol. Biol. (Paris)* 58(5), 2010, 357-366.

CONFÉRENCES ET CONGRÈS

Monod Conferences *Mental Retardation: from genes to synapses, functions and dysfunctions*, Roscoff, 08 au 10 octobre 2010, « From Fragile X to FMRP and to the first “big pharma” clinical trial: an historical overview », *conférencier*.

Colloque de rentrée du Collège de France, *La mondialisation de la recherche (compétition, coopérations, restructurations)*, Paris, 14 et 15 octobre 2010, « L'explosion bioinformatique », *intervenant*.

Séminaires Pierre Royer (27^e séminaire de génétique clinique) Paris, 17 et 18 mars 2011 : « Syndrome X fragile et syndrome FXTAS », *conférencier*.

École-Chercheurs : *Génomique et diversité des caractères à déterminisme complexe*, 15 -20 mai 2011 (La Colle sur Loup – 06) : « Les enjeux de la médecine prédictive », *exposé et animation de la table ronde*.

Journées de formation des praticiens conseils d'Alsace-Moselle, 26 et 27 mai 2011 (AGIPI, Strasbourg) : « Génétique et maladies communes », « Maladies génétiques rares : aspects diagnostiques », « Maladies génétiques rares : traitement », *conférence*.

Colloque inaugural, *Génome, bioinformatique : un nouvel âge d'or de la génétique, AVIESAN-ITMO Génétique, génomique et bioinformatique*, Paris, 6 juin 2011, « Des maladies Des maladies monogéniques aux maladies génétiquement complexes : quelques perspectives pour les prochaines années », *conférence de clôture*.

Colloque *Starting from transcription* en l'honneur de Pierre Chambon. (IGBMC, Strasbourg), 24-25 juin 2011, *coorganisateur et président de session*.

Conférences grand public

Congrès de l'Union des professeurs de biochimie microbiologie (UPBM) à Strasbourg, le 18 octobre 2010 : « Prédispositions génétiques aux maladies communes : où en est-on ? », *conférencier*.

Conférence, *La biologie du développement, une science du XXI^e siècle* avec Julien Vermot, Centre culturel Illiade (Illkirch), 14 octobre 2010, à l'occasion du 1^{er} symposium international IGBMC, « New Frontiers in Cell and Developmental Biology ».

1^{er} Forum Européen de Bioéthique (FEBS), *Du début à la fin de vie, l'humain me concerne*, Strasbourg, du 1^{er} au 5 février 2011, (*président et cofondateur* du FEBS avec Nisand Pr.I., plus de 20 manifestations sur le thème du vieillissement et de la fin de vie avec plus de 6000 participants) : « Maladies du vieillissement : quels espoirs de la recherche ? » le 3 février 2011, *intervenant*.

Débat sur « les tests génétiques sur internet » organisé par l'Association *les Débats de l'Agro et Agroparistech* à Paris le 21 mars 2011, *intervenant*.

Participation à des projets européens

L'équipe d'Hélène Puccio fait partie d'un consortium européen, EFACTS (The European Friedreich Ataxia Consortium for Translational Studies) financé par le 7^e programme cadre (FP7) de la Commission Européenne. Ce consortium implique 14 partenaires européens et un partenaire industriel aux États-Unis (2010-2014). Les projets d'Hélène Puccio sont par ailleurs financés par un ERC starting grant obtenu en 2007. Dans le cadre des programmes européens ERA-Net for Research Programmes on Rare Diseases, Michel Koenig est coordonnateur du projet Euro SCAR « Nosology and molecular diagnosis of the degenerative recessive ataxias » et Jocelyn Laporte participe avec deux autres équipes au projet MTMPathies2 « Submitted by josecobos on Mon, 2011-10-17 13:26 MTM1 and MTMR2 myotubularins: biochemical activity and the regulation of membrane trafficking in health and disease ».

J.L. Mandel participe au projet FP7 Gencodys (Genetic and epigenetic networks in cognitive dysfunction, 2010-2015), qui réunit onze partenaires européens.